

PCT/JP 2004/006555

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

18. 5. 2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application: 2003年 5月15日

REC'D 08 JUL 2004

WIPO

PCT

出 願 番 号  
Application Number: 特願2003-137881  
[ST. 10/C]: [JP2003-137881]

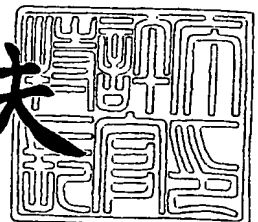
出 願 人  
Applicant(s): 株式会社資生堂

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 6月21日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今井康夫



出証番号 出証特2004-3054364

【書類名】 特許願  
【整理番号】 SI02312  
【提出日】 平成15年 5月15日  
【あて先】 特許庁長官 太田 信一郎 殿  
【国際特許分類】 G01N 30/00  
G01N 30/16

## 【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市都筑区早渕 2 - 2 - 1 株式会社資生堂  
リサーチセンター（新横浜）内

【氏名】 富樫 有希

## 【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市都筑区早渕 2 - 2 - 1 株式会社資生堂  
リサーチセンター（新横浜）内

【氏名】 城田 修

## 【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市都筑区早渕 2 - 2 - 1 株式会社資生堂  
リサーチセンター（新横浜）内

【氏名】 大久保 綾

## 【特許出願人】

【識別番号】 000001959

【氏名又は名称】 株式会社資生堂

## 【代理人】

【識別番号】 100070150

## 【弁理士】

【氏名又は名称】 伊東 忠彦

## 【手数料の表示】

【予納台帳番号】 002989

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 試料注入装置及び方法、並びに該試料注入装置を有する液体クロマトグラフィ装置

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 試料が供給される試料用容器、  
前記試料を吸引及び吐出する試料用ニードル、  
少なくとも前記試料用ニードルを洗浄する洗浄液が供給される洗浄部、  
前記試料用ニードルから吐出される前記試料を、移動する液体に注入する試料注入部、並びに

前記試料用容器、前記洗浄部、及び前記試料注入部の間で前記試料用ニードルを移動させるニードル移動手段、を有する試料注入装置において、

前記洗浄部は、前記洗浄液に超音波を発生させる超音波振動子を有することを特徴とする試料注入装置。

【請求項 2】 前記洗浄部は、前記超音波振動子による振動が、前記試料注入装置における前記洗浄部の以外の部材へ伝播することを低減させる、振動緩衝部材を有することを特徴とする請求項 1 記載の試料注入装置。

【請求項 3】 試料用ニードルに試料を吸引するステップ、  
前記試料用ニードルに前記試料を保持すると共に、前記試料用ニードルを洗浄液に浸漬するステップ、

前記洗浄液に超音波を発生させ、前記洗浄液に浸漬された前記試料用ニードルを洗浄するステップ、及び

前記試料を、前記試料用ニードルから吐出し、移動する液体に注入するステップを有することを特徴とする試料注入方法。

【請求項 4】 移動相としての液体が貯蔵される移動相貯槽、  
前記移動相としての液体に試料を注入する試料注入装置、  
前記移動相としての液体と共に前記試料注入装置から送出される前記試料の成分を分離する分離用カラム、及び

前記分離用カラムによって分離された前記試料の成分を検出する検出器を有する液体クロマトグラフィ装置において、

前記試料注入装置は、前記試料が供給される試料用容器、前記試料を吸引及び吐出する試料用ニードル、少なくとも前記試料用ニードルを洗浄する洗浄液が供給される洗浄部、前記試料用ニードルから吐出される前記試料を前記移動相としての液体に注入する試料注入部、並びに前記試料用容器、前記洗浄部、及び前記試料注入部の間で前記試料用ニードルを移動させるニードル移動手段、を有し、

前記洗浄部は、前記洗浄液に超音波を発生させる超音波振動子を有することを特徴とする液体クロマトグラフィ装置。

【請求項 5】 前記洗浄部は、前記超音波振動子による振動が、前記試料注入装置における前記洗浄部の以外の部材へ伝播することを低減させる、振動緩衝部材を有することを特徴とする請求項 4 記載の液体クロマトグラフィ装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、移動する液体に試料を注入する試料注入装置及び試料注入方法、並びに該試料注入装置を有する液体クロマトグラフィ装置に関する。

【0002】

【従来の技術】

試料を移動相としての液体と共に加圧してカラムへ送り、試料の成分を分離及び溶出させて検出器で検出する液体クロマトグラフィの装置は、基本的には、図 4 に示すような構成を有する。図 4 において、液体クロマトグラフィの装置は、移動相としての液体を貯蔵しておく移動相貯槽 101、移動相としての液体中の空気を除去する移動相脱気装置 102、移動相としての液体を移動相貯槽 101 から検出器 107 まで送るためのポンプ 103、試料を分離用カラム 105 へ向う移動相としての液体へ注入する（自動）試料注入装置 104、試料の成分を分離するための充填剤で満たされた分離用カラム 105、分離用カラム 105 を略一定の温度に保つカラム恒温槽 106、及び溶出された試料の成分を検出する検出器 107 を含む。

【0003】

このような構造を有する液体クロマトグラフィの検出感度が、高くなるにつれ

て、キャリーオーバーと呼ばれる現象が問題になってきた。キャリーオーバーとは、時系列的に前に測定した試料の物質が液体クロマトグラフィの装置内に残留し、あたかも現在測定している試料中にその物質が存在するような検出結果を示す現象であり、分析結果の信頼性を低下させる。キャリーオーバーは、自動試料注入装置 104 において移動相としての液体へ試料を注入するとき、試料が、自動試料注入装置 104 内の金属及び／又は樹脂に吸着して残留し、その残留した試料が、次の試料を注入するときに、液体クロマトグラフィの分析系へ導入されてしまうことによって生じる。特に、塩基性及び／又は脂溶性の物質を含む試料は、自動試料注入装置 104 内の金属及び／又は樹脂に吸着し易いため、自動試料注入装置 104 内に残留し易く、キャリーオーバーが顕著に観察されることが知られている。

#### 【0004】

自動試料注入装置 104 内に吸着し残留する試料を除去することによってキャリーオーバーを低減させるために、自動試料注入装置 104 内に自己洗浄機能を設けることができる。自動試料注入装置 104 の主な動作は、図 6 に示すように、試料用容器 14 に供給された試料を試料用ニードル 10 で採取すること、試料を採取した試料用ニードル 10 をインジェクションバルブ 15 のインジェクションポート 19 に挿入し、試料用ニードル 10 からサンプルループ 16 へ試料注入路を通じて試料を注入すること、及びインジェクションバルブ 15 内の試料の流路が切り替り、サンプルループ 16 内の試料を分離用カラム 105 へ送出すること、からなる。このため、自動試料注入装置 104 内における試料が吸着及び残留する場所（試料吸着部位）として、試料を採取した後の試料用ニードル 10 の外壁、試料を注入した後における試料用ニードル 10 の内壁及び試料注入路の内壁、試料を分離用カラム 105 へ送出した後のサンプルループ 16 の内壁及びインジェクションバルブ 15 内の試料の流路が挙げられる。

#### 【0005】

自己洗浄機能は、これらの試料吸着部位に対応して設けられるため、試料用ニードルの外壁洗浄機能、試料用ニードルの内壁洗浄機能、試料注入路洗浄機能、並びにサンプルループ及びインジェクションバルブ洗浄機能の四つの自己洗浄機

能を設ければよい。これら四つの自己洗浄機能を以下に説明する。

#### 【0006】

(1) 試料注入直前の試料用ニードルの外壁洗浄機能（ニードルプレウォッシュ）

図7に示すように、ニードルプレウォッシュは、試料用ニードル10に採取した試料をインジェクションポートに注入する直前に、洗浄部17に送り込まれた洗浄液中に試料用ニードル10を浸漬させることで、試料を採取した後に試料用ニードル10の外壁に吸着及び残留した試料を洗浄する機能である。試料用ニードル10の外壁に残留する試料を洗浄した洗浄液は、廃棄され、純粋な洗浄液が、洗浄部17に補充される。ニードルプレウォッシュでは、ユーザーは、試料用ニードル10を洗浄液に浸漬する時間（洗浄時間）を設定することができる。

#### 【0007】

(2) 試料注入直後の試料用ニードルの内壁洗浄（ニードルポストウォッシュ）

図8に示すように、ニードルポストウォッシュは、試料をインジェクションポートに注入した直後、洗浄部17に供給される洗浄液に試料用ニードル10を浸漬すると共に試料用ニードル10内に洗浄液を流すことで、試料用ニードル10の内壁に吸着及び残留した試料を洗浄する機能である。試料用ニードル10の内壁に残留する試料を洗浄した洗浄液は、廃棄され、純粋な洗浄液が、洗浄部17に補充される。ニードルポストウォッシュでは、ユーザーは、試料用ニードル10に洗浄液を流す時間（洗浄時間）を設定することができる。

#### 【0008】

(3) 試料注入後の試料注入路洗浄（ポストインジェクションウォッシュ）

図9に示すように、ポストインジェクションウォッシュは、試料をインジェクションポートに注入した後、試料の分析中に、以下の1)乃至3)の動作を順に実行する洗浄機能である。

#### 【0009】

1) 洗浄液ポート24上に試料用ニードル10を移動させ、洗浄液ポート24に用意された洗浄液を試料用ニードル10に吸引させる。

## 【0010】

2) 洗浄液を吸引して保持した試料用ニードル10をインジェクションバルブ15のインジェクションポート19に挿入し、試料用ニードル10内の洗浄液を(繰り返し)吐出及び吸引することによって、インジェクションバルブ15内の試料注入路(インジェクションポート19から廃液ポート23までの流路)を洗浄する。このとき、インジェクションバルブ15は、インジェクションポート19と廃液ポート23を接続させており、インジェクションポート19は、サンプルループ16と接続されてない。従って、試料を試料注入路に注入した後、インジェクションポート19と廃液ポート23を接続させることで、サンプルループ16を通じて試料を分析すると同時に、インジェクションポート19及び廃液ポート23間の流路を洗浄することができる。

## 【0011】

3) 試料注入路を洗浄した洗浄液を吸引した試料用ニードル10を廃液ポート23へ移動させ、試料注入路を洗浄した洗浄液を廃液ポート23へ廃棄する。

## 【0012】

ポストインジェクションウォッシュでは、ユーザーは、試料用ニードル10に吸引する洗浄液の容量並びに洗浄液を吐出及び吸引する回数(洗浄回数)を設定することができる。また、二個以上の洗浄液ポート24を設け、二種類以上の洗浄液を使用することも可能である。例えば、二種類の洗浄液を使用する場合には、先に使用する洗浄液が、洗浄力の強い液体(分離用カラム105を通過することを望まない強アルカリなど)であり、後に使用する洗浄液が、移動相として使用される液体であるとすれば、洗浄力の強い液体を使用することができると共に、その洗浄力の強い液体が、分析系に混入することを防止することができる。

## 【0013】

(4) 分析進行中のサンプルループ及びインジェクションバルブ洗浄機能(ループリンス)

ループリンスを行うためには、自動試料注入装置の外にループリンスバルブを必要とする。図10(a)及び(b)に示すように、ループリンスバルブ108は、移動相貯槽101から供給される移動相の液体の流路を切り替えるように動



作する。すなわち、図10(a)に示すように、ループリンスの洗浄機能を動作させないときには、ポンプ103によって送出された移動相としての液体は、試料注入装置104内へ供給され、試料と共に分離用カラム105及び検出器107に送出される。逆に、図10(b)に示すように、ループリンスの洗浄機能を動作させるときには、ポンプ103によって送出された移動相としての液体は、試料注入装置104を通過せず、分離用カラム105及び検出器107へ直接送出される。このようなループリンスバルブ108を使用すれば、図10(a)に示す流路で試料を分離用カラム105に送出した後、すぐに図10(b)に示す流路に切り替えれば、移動相としての液体を、分離用カラム105へ送出することによって分析を進行させると同時に、サンプルループ及びインジェクションバルブを洗浄することができる。

#### 【0014】

ループリンスは、図10及び図11に示すように、試料をサンプルループ16に注入した後、以下の1)乃至4)の動作を順に実行する洗浄機能である。

#### 【0015】

1) 試料をサンプルループ16に注入した後、分離用カラム105及び検出器107を含む分析系の流路から、自動試料注入装置が、ループリンスバルブ108によって完全に切り離される。

#### 【0016】

2) 移動相としての液体を、自動試料注入装置104を通さずに分離用カラム105へ送出することによって、分析を行うと同時に、自動試料注入装置104内では、試料用ニードル10を、インジェクションバルブ15のインジェクションポート19に挿入し、試料用ニードル10から洗浄液を吐出させることによって、サンプルループ16及びインジェクションバルブ15内を洗浄する。ここで、試料用ニードル10は、洗浄液が貯蔵された洗浄液用容器と接続されており、洗浄液は、洗浄液用容器から試料用ニードルへ供給される。

#### 【0017】

3) 洗浄液が試料用ニードル10から吐出されている間に、インジェクションバルブ15の流路が切り換わるため、インジェクションポート19から廃液ポー

ト 23 までの流路も洗浄することができる。

【0018】

4) サンプルループ 16 及びインジェクションバルブ 15 内の洗浄が終了すると、ループリンスバルブ 108 が切り替り、図 10 (a) に示すように通常の自動試料注入装置 104 を通じた流路に戻る。

【0019】

ループリンスでは、ユーザーは、試料用ニードル 10 から洗浄液を吐出する時間（洗浄時間）及びインジェクションバルブ 15 の切り替えの回数を設定することができる。また、二個以上の洗浄液用容器を設け、これらの洗浄液用容器と試料用ニードル 10 を接続し、これらの洗浄液用容器と試料用ニードル 10 との接続を切り替えることによって、二種類以上の洗浄液を使用することも可能である。例えば、二種類の洗浄液を使用する場合には、先に使用する洗浄液が、洗浄力の強い液体（分離用カラム 105 を通過することを望まない強アルカリなど）であり、後に使用する洗浄液が、移動相として使用される液体であるとすれば、洗浄力の強い液体を使用することができると共に、その洗浄力の強い液体が、分析系に混入することを防止することができる。

【0020】

一方、ニードルの洗浄に関して、液を吸引及び吐出することなく試料の混合又はニードルの洗浄を行うことができる、液体クロマトグラフィなどの分析装置に試料を導入する試料導入装置も開示されている（特許文献 1 参照）。この試料導入装置は、試料注入用ニードルに直接に、又は振動を伝達しうる部材を介して接触して配置された超音波振動子などの振動発生部と、振動発生部を制御する振動制御部とを備える。より具体的には、試料注入用ニードル又は試料注入用ニードルにつながる金属部分に接触して配置された超音波振動子を備えており、試料混合時又はニードル洗浄時には、振動制御部で制御しながら超音波振動子でニードル自体を振動させている。

【0021】

【特許文献 1】

特開平 11-304779 号公報

## 【0022】

## 【発明が解決しようとする課題】

四つの自己洗浄機能を設けた自動試料注入装置は、キャリーオーバー現象を低減させるために四つの自己洗浄機能を組み合わせて実行するので、平均3分程度の洗浄時間を必要とする。これら四つの自己洗浄機能において、ニードルプレウォッシュは、分析開始前に行われるが、通常1乃至5秒程度の洗浄で十分であり、あまり洗浄時間を要しない。よって、ニードルプレウォッシュを除く他の三つの自己洗浄機能が、合計3分程度の時間を要する。ただし、これら三つの自己洗浄機能は、試料を分析すると同時に実行可能である。これより、分析時間が、3分以上であれば、三つの自己洗浄機能は、全て分析時間内に行われるため、問題ない。しかしながら、液体クロマトグラフィによる分析については、分析時間は、短縮されつつあり、分析時間の短縮化に合わせて、洗浄時間も短縮する必要がある（例えば、洗浄時間＝1分以内）。

## 【0023】

また、四つの自己洗浄機能を設けた自動試料注入装置は、分析試料に適合した最適な洗浄の条件を設定するために、四つの自己洗浄機能の動作条件をそれぞれ設定する必要がある。しかしながら、上述のように、四つの自己機能の動作条件は、合計6乃至8個程度のパラメータを設定する必要があり、設定するパラメータの数が多いと共に複雑であり、ユーザーにとって不便である。

## 【0024】

一方、試料注入用ニードルに直接に、又は振動を伝達しうる部材を介して接触して配置された超音波振動子などの振動発生部を備える試料導入装置においては、試料注入用ニードル自体を振動させるので、試料注入用ニードルに負荷がかかる。その結果、試料注入用ニードルの劣化が起こり、試料注入用ニードルの耐久性が低下することが懸念される。また、このような試料注入用ニードルに試料を吸引した状態で試料注入用ニードルを洗浄すると、試料注入用ニードル自体が振動するため、試料注入用ニードルに吸引された試料の一部が、洗浄液の中に失われ、試料の注入量に大きな誤差を生じる可能性がある。さらに、試料注入用ニードル自体を振動させることで、試料注入用ニードルを介して自動試料注入装置に

おける他の部材にも振動が伝播する可能性がある。しかしながら、自動試料注入装置は、基本的に精密機械であるため、不要な振動を回避することが要求される。このため、試料注入用ニードルに直接に、又は振動を伝達しうる部材を介して接触して配置された超音波振動子を備える試料導入装置は、試料注入用ニードルの超音波振動による影響を受け得るという問題もある。

#### 【0025】

本発明は、上記問題に鑑みなされたものであり、キャリーオーバーを十分に低減することができ、簡便で洗浄時間が短い洗浄手段を有し、洗浄手段による振動の影響が少なく、試料の注入量の誤差が少なく、試料用ニードルの耐久性を低下させない、試料注入装置及び試料注入方法、並びに該試料注入装置を有する液体クロマトグラフィ装置を提供することを目的とする。

#### 【0026】

##### 【課題を解決するための手段】

請求項1記載の発明は、試料が供給される試料用容器、前記試料を吸引及び吐出する試料用ニードル、少なくとも前記試料用ニードルを洗浄する洗浄液が供給される洗浄部、前記試料用ニードルから吐出される前記試料を、移動する液体に注入する試料注入部、並びに前記試料用容器、前記洗浄部、及び前記試料注入部の間で前記試料用ニードルを移動させるニードル移動手段、を有する試料注入装置において、前記洗浄部は、前記洗浄液に超音波を発生させる超音波振動子を有することを特徴とする。

#### 【0027】

請求項1記載の発明によれば、前記洗浄部は、前記洗浄液に超音波を発生させる超音波振動子を有するので、キャリーオーバーを十分に低減することができ、簡便で洗浄時間が短い洗浄手段を有し、洗浄手段による振動の影響が少なく、試料の注入量の誤差が少なく、試料用ニードルの耐久性を低下させない、試料注入装置を提供することができる。

#### 【0028】

請求項2記載の発明は、請求項1記載の試料注入装置において、前記洗浄部は、前記超音波振動子による振動が、前記試料注入装置における前記洗浄部の以外

の部材へ伝播することを低減させる、振動緩衝部材を有することを特徴とする。

【0029】

請求項2記載の発明によれば、前記洗浄部は、前記超音波振動子による振動が、前記試料注入装置における前記洗浄部の以外の部材へ伝播することを低減させる、振動緩衝部材を有するので、試料注入装置における洗浄部の以外の部材に対する超音波振動子による振動の影響をより低減することができる。

【0030】

請求項3記載の発明は、試料注入方法において、試料用ニードルに試料を吸引するステップ、前記試料用ニードルに前記試料を保持すると共に、前記試料用ニードルを洗浄液に浸漬するステップ、前記洗浄液に超音波を発生させ、前記洗浄液に浸漬された前記試料用ニードルを洗浄するステップ、及び前記試料を、前記試料用ニードルから吐出し、移動する液体に注入するステップを有することを特徴とする。

【0031】

請求項3記載の発明によれば、試料用ニードルに試料を吸引するステップ、前記試料用ニードルに前記試料を保持すると共に、前記試料用ニードルを洗浄液に浸漬するステップ、前記洗浄液に超音波を発生させ、前記洗浄液に浸漬された前記試料用ニードルを洗浄するステップ、及び前記試料を、前記試料用ニードルから吐出し、移動する液体に注入するステップを有するので、キャリーオーバーを十分に低減することができ、簡便で洗浄時間が短い洗浄手段を有し、洗浄手段による振動の影響が少なく、試料の注入量の誤差が少なく、試料用ニードルの耐久性を低下させない、試料注入方法を提供することができる。

【0032】

請求項4記載の発明は、移動相としての液体が貯蔵される移動相貯槽、前記移動相としての液体に試料を注入する試料注入装置、前記移動相としての液体と共に前記試料注入装置から送出される前記試料の成分を分離する分離用カラム、及び前記分離用カラムによって分離された前記試料の成分を検出する検出器を有する液体クロマトグラフィ装置において、前記試料注入装置は、前記試料が供給される試料用容器、前記試料を吸引及び吐出する試料用ニードル、少なくとも前記

試料用ニードルを洗浄する洗浄液が供給される洗浄部、前記試料用ニードルから吐出される前記試料を前記移動相としての液体に注入する試料注入部、並びに前記試料用容器、前記洗浄部、及び前記試料注入部の間で前記試料用ニードルを移動させるニードル移動手段、を有し、前記洗浄部は、前記洗浄液に超音波を発生させる超音波振動子を有することを特徴とする。

#### 【0033】

請求項4記載の発明によれば、前記試料注入装置は、前記試料が供給される試料用容器、前記試料を吸引及び吐出する試料用ニードル、少なくとも前記試料用ニードルを洗浄する洗浄液が供給される洗浄部、前記試料用ニードルから吐出される前記試料を前記移動相としての液体に注入する試料注入部、並びに前記試料用容器、前記洗浄部、及び前記試料注入部の間で前記試料用ニードルを移動させるニードル移動手段、を有し、前記洗浄部は、前記洗浄液に超音波を発生させる超音波振動子を有するので、キャリーオーバーを十分に低減することができ、簡便で洗浄時間が短い洗浄手段を有し、洗浄手段による振動の影響が少なく、試料の注入量の誤差が少なく、試料用ニードルの耐久性を低下させない、試料注入装置を有する液体クロマトグラフィ装置を提供することができる。

#### 【0034】

請求項5記載の発明は、請求項4記載の液体クロマトグラフィ装置において、前記洗浄部は、前記超音波振動子による振動が、前記試料注入装置における前記洗浄部の以外の部材へ伝播することを低減させる、振動緩衝部材を有することを特徴とする。

#### 【0035】

請求項5記載の発明によれば、前記洗浄部は、前記超音波振動子による振動が、前記試料注入装置における前記洗浄部の以外の部材へ伝播することを低減させる、振動緩衝部材を有するので、試料注入装置における洗浄部の以外の部材に対する超音波振動子による振動の影響をより低減することができる。

#### 【0036】

##### 【発明の実施の形態】

次に、本発明の実施の形態について図面と共に説明する。

## 【 0 0 3 7 】

まず、本発明の試料注入装置の構成を説明する。本発明の試料注入装置は、少なくとも、試料用容器、試料用ニードル、洗浄部、試料注入部、及びニードル移動手段を含む。

## 【 0 0 3 8 】

試料用容器には、移動する液体に注入される試料が供給され、溜められる。試料用ニードルは、移動する液体に注入する試料を吸引及び吐出する。試料用ニードルは、例えば、シリンジに接続され、シリンジの押し引きによって試料用ニードル内の圧力を制御することによって、試料を吐出及び吸引する。洗浄部は、少なくとも試料用ニードルを洗浄する洗浄液が供給される。洗浄部に供給される洗浄液は、試料用ニードル以外、例えば、上述のインジェクションバルブ内の試料注入経路及びサンプルループなどの洗浄に使用してもよい。また、洗浄液は、移動する液体と同じ液体であってもよい。洗浄部においては、純粋な洗浄液が連続的に供給され、試料用ニードルなどを洗浄して汚染された洗浄液は、廃液される。試料注入部は、本発明の試料注入装置内を移動する液体に、試料用ニードルから吐出された試料を注入する部材である。試料注入部は、より具体的には、上述のインジェクションバルブ及びサンプルループなどを含む。ニードル移動手段は、試料用容器、洗浄部、及び試料注入部の間で試料用ニードルを移動させる。ニードル移動手段は、試料用容器、洗浄部、及び試料注入部に、単独で試料用ニードルを移動させてもよい。また代わりに、ニードル移動手段は、試料用容器と洗浄部との間における試料用ニードルの移動と、洗浄部と試料注入部との間における試料用ニードルの移動とで、異なる手段であってもよい。

## 【 0 0 3 9 】

本発明によれば、洗浄部は、洗浄液に超音波を発生させる超音波振動子を有すると共に超音波振動子の振動によって発生した超音波を洗浄液に伝達し得る材料で作られている。超音波振動子は、超音波振動子が、自由に振動できる場所であれば、洗浄部における任意の場所（例えば、洗浄部の底面）に取り付けることができる。超音波振動子の振動は、超音波の振動を制御するデバイスによって、制御することができる。超音波振動子の振動は、洗浄部に溜められている洗浄液に

超音波を発生させる。超音波振動子によって発生した超音波は、コヒーレントでない疎密波であり、洗浄部の内壁で反射され、洗浄液に浸漬された試料用ニードルの外壁の近傍における洗浄液を振動させる。これにより、試料用ニードルの外壁に吸着及び残留した試料を洗浄することができる。

#### 【0040】

本発明の試料注入装置では、試料用ニードル自体に（直接に又は振動を伝達しうる部材を介して）超音波振動子を取り付けないので、試料用ニードル自体を振動させない。よって、本発明においては、試料用ニードルに超音波振動子の振動による負荷がなく、試料用ニードルを劣化させずに（試料用ニードルの耐久性を低下させずに）、試料用ニードルの超音波による洗浄を実現することができる。また、試料用ニードル自体が振動しないので、試料を吸引した後に試料用ニードルを超音波洗浄しても、吸引した試料が、洗浄液の中に失われることがまったくなく、移動する液体に注入する試料の量における誤差が少ない。よって、試料を、移動する液体へ精密に注入することができる。さらに、試料用ニードル自体を振動させないので、試料用ニードルを介した試料注入装置の他の部材へ振動が伝播することがなく、試料用ニードルの振動による試料注入装置の振動を防止することができる。

#### 【0041】

洗浄部は、振動緩衝部材を有することが望ましい。この振動緩衝部材は、超音波振動子による振動が、試料注入装置における洗浄部の以外の部材へ伝播することを低減させる。よって、試料注入装置における洗浄部の以外の部材に対する超音波振動子の振動による悪影響をより低減することができる。振動緩衝部材は、例えば、ばね及びゴムなどの弾性体である。また、超音波振動子による振動が、試料注入装置における洗浄部の以外の部材へ伝播しなければ、超音波振動子による振動のエネルギーを無駄にせず、試料用ニードルの洗浄に有効に利用することができる。

#### 【0042】

なお、本発明の試料注入装置における上記の動作は、全て自動で行うこと、すなわち自動試料注入装置であることが好ましい。



## 【0043】

ここで、本発明による自動試料注入装置の具体例を図1と共に説明する。自動試料注入装置は、試料用ニードル10、シリンジ11、洗浄液用ポンプ12、バルブ13、試料用容器14、インジェクションバルブ15、サンプルループ16、洗浄部17、洗浄液用容器18、洗浄液ポート24、及び図示してないニードル移動手段を有する。図1の自動試料注入装置において、試料用ニードル10は、シリンジ11に接続されており、シリンジ11の押し引きによって、試料用ニードル10は、試料用容器14に供給された試料を吸引及び吐出することができる。また、洗浄液用容器18に貯蔵されている洗浄液は、洗浄液用ポンプ12によって洗浄部17又は試料用ニードル10に連続的に送出される。ここで、試料用ニードル10及びシリンジ11の間には、バルブ13が設けられており、このバルブ13を切り替えることによって、洗浄液用容器18から送出される洗浄液を、洗浄部17又は試料用ニードル10へ供給することができる。洗浄部17には、洗浄液が連続的に供給され、一定量以上の洗浄液は、廃液として洗浄部17から排出される。洗浄部17は、超音波振動子を取り付けられており、また、振動用緩衝部材としての振動用緩衝バネを介して自動試料注入装置の底面に固定されている。インジェクションバルブ15は、試料用ニードル10が挿入されると共に試料用ニードル10から試料又は洗浄液を注入するためのインジェクションポート19を有し、及びサンプルループ16が接続されている。また、インジェクションバルブ15には、自動試料注入装置の外部から液体が供給され、自動試料注入装置の外部へこの液体を送出する。より具体的には、自動試料注入装置が、液体クロマトグラフィ装置において使用される場合には、自動試料注入装置の外部に設けられたポンプによって移動相としての溶媒が供給され、この溶媒を分離用カラムに送出する。さらに、一つ又は複数の洗浄液ポート24（図1においては三個の洗浄液ポート24）を自動試料注入装置内に設けてもよい（この場合には、上述した自己洗浄機能の一つであるポストインジェクションウォッシュを実行することが可能になる）。

## 【0044】

ここで、液体クロマトグラフィ装置において使用される場合におけるインジェ

クションバルブの動作を、図2を用いて詳細に説明する。インジェクションバルブ15は、六個のポートを有し、これら六個のポートは、実線A又は点線Bのいずれかの組み合わせで接続される。インジェクションバルブ15は、これら実線A又は点線Bで示される接続を切り替えることができる。なお、以下の説明で、洗浄液は、移動相としての溶媒と同じものとする。

#### 【0045】

インジェクションバルブ15における六個のポートが、実線Aによって示されるように接続される場合には、外部のポンプから供給される移動相としての溶媒は、分離用カラムへ送出される。一方、試料が、試料用ニードルによってインジェクションポート19に供給されるときには、その供給された試料は、サンプルループ16内に保持される。なお、サンプルループ16の長さは、試料用ニードルによって供給され得る最大の量の試料を保持できるように設計されている。試料用ニードルによって試料が供給される代わりに、洗浄液が供給されるときには、洗浄液が、試料用ニードルから連続的に供給され、サンプルループ16を通じて廃液ポートへ排出される。すなわち、サンプルループ16内を洗浄液で洗浄することができる。

#### 【0046】

インジェクションバルブ15における六個のポートの接続を、点線Bによって示されるように切り替えると、自動試料注入装置の外部から供給される移動相としての溶媒は、サンプルループ16を通過し、分離用カラムへ送出される。このとき、サンプルループ16内に試料が保持されていれば、サンプルループ16を通過する移動相としての溶媒と共に分離用カラムへ送出される。このようにして、分離用カラムで試料の成分を分離し、それら成分を検出器で検出することができる。一方、インジェクションポート19には、試料用ニードルを介して洗浄液が供給される。これにより、インジェクションポート19から廃液ポートまでの流路を洗浄することができる。

#### 【0047】

上述した六個のポートの接続をA及びBの間で切り替えることにより、洗浄液が、移動相としての溶媒と同じであるので、六個のポート間を接続する全ての流

路を、洗浄液（移動相としての溶媒）で洗浄することができる。同時に、注入された試料を、分離カラムへ送出して、試料の成分を分離分析することができる。

#### 【0048】

次に、本発明の試料注入方法を説明する。まず、試料用ニードルに試料を吸引し、試料用ニードルに試料を保持したまま、試料用ニードルを洗浄液に浸漬する。ここで、洗浄液に超音波を発生させ、洗浄液に浸漬された試料用ニードルを洗浄する。その後、試料を、試料用ニードルから吐出し、移動する液体に注入する。

#### 【0049】

ここで、本発明の試料注入装置を使用する本発明の試料注入方法を図3と共に説明する。まず、予め洗浄された試料注入用ニードル10を、ニードル移動手段によって、試料用容器14まで移動させ、試料用容器14に供給された試料に浸漬させる。次に、試料用ニードル10に接続されたシリンジ11を引いて、試料用ニードル10内に試料を吸引する。試料を吸引した後、ニードル移動手段を使用して、試料用ニードル10を、洗浄部17まで移動させ、洗浄部に供給された洗浄液に浸漬させる。洗浄液は、洗浄部17を通じて流れており、洗浄部17には、純粋な洗浄液が連続的に供給される。ここで、洗浄部17に取り付けられた超音波振動子21を振動させて、洗浄液に超音波を発生させる。このように洗浄液に発生させた超音波によって、洗浄液に浸漬した試料用ニードル10の外壁を洗浄することができる。なお、吸引した試料を試料用ニードル10に保持したまま、試料用ニードル10の外壁を、上述の超音波洗浄の方法によって洗浄しても、試料用ニードル10自体を振動させないので、吸引した試料の洗浄液への損失は、まったくない。また、洗浄部には、振動緩衝部材である振動緩衝用バネ22が取り付けられており、超音波振動子21の振動が、試料注入装置における洗浄部17以外の部材に伝播することを低減する。試料用ニードル10を超音波洗浄した後は、ニードル移動手段を使用して、試料用ニードル10を、試料注入部であるインジェクションバルブ15まで移動させ、インジェクションバルブ15のインジェクションポート19に試料用ニードル10を挿入する。最後に、試料用ニードル10に接続したシリンジ11を押して、試料用ニードル10内に採取し

た試料を、インジェクションバルブ15及びインジェクションバルブ15に設けられたサンプルループ16などを介して、移動する液体に注入する。

#### 【0050】

本発明の試料注入装置及び／又は試料注入方法によれば、キャリーオーバーを十分に低減することができる。また、従来の四つの自己洗浄機能（ニードルプレウォッシュ、ニードルポストウォッシュ、ポストインジェクションウォッシュ、ループリンス）を使用する必要がないため、試料注入装置を、簡単にすることができ、洗浄の条件を容易に設定することができる。また、従来の四つの自己洗浄機能を使用した洗浄に対して洗浄時間を短くすることができる。ただし、一つ又は複数の上記従来の四つの自己洗浄機能を、必要に応じて、本発明における試料用ニードルの超音波洗浄と組み合わせてもよい。さらに、試料用ニードル自体を振動させないので、試料用ニードルの耐久性を低下させることがない。また、超音波振動子の振動による、試料用ニードルに吸引された試料の洗浄液への損失がまったくなく、試料の注入量の誤差も少ない。さらに、洗浄部に振動緩衝部材を設ければ、試料注入装置における洗浄部の以外の部材に対する振動の影響をより低減することができる。

#### 【0051】

次に、本発明の液体クロマトグラフィ装置を図4と共に説明する。図4に示すように、本発明の液体クロマトグラフィ装置は、少なくとも移動相貯槽101、試料注入装置104、分離用カラム105、及び検出器107を有し、試料注入装置104には、本発明の試料注入装置が使用されている。移動相貯槽101には、液体クロマトグラフィに使用する移動相としての周知の液体が貯蔵されている。本発明の試料注入装置は、上述したように、試料用ニードルを超音波により洗浄する機構を有し、移動相としての液体に試料を注入する。分離用カラム105は、固定相としての周知のカラム充填剤が充填されており、移動相としての液体と共に試料注入装置104から送出される試料の成分を分離する。検出器107は、分離用カラム105によって分離された試料の成分を検出する。ここで、移動相貯槽101に貯蔵されている移動相としての液体を、検出器107まで送出するためには、移動相貯槽101と試料注入装置104との間に設けられるポ

ンプ103などの移動相送出手段を使用する。また、ポンプ103などの移動相送出手段によって移動相としての液体を試料注入装置104へ送出する前に、移動相貯槽101とポンプ103などの移動相送出手段との間に設けられる周知の移動相脱気装置102によって、移動相としての液体に含まれる空気を脱気することが好ましい。さらに、分離用カラム105による理論段数などの分離の性能を一定に保つためには、分離用カラム105の温度を一定に保つための周知のカラム恒温槽106を、分離用カラム105に設けることが望ましい。

#### 【0052】

##### 【実施例】

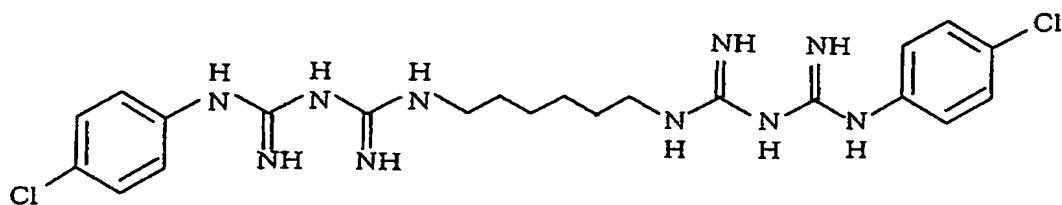
本発明の液体クロマトグラフィ装置に対して行ったキャリーオーバーの評価の結果を図5と共に説明する。

#### 【0053】

図1乃至図3に示すような自動試料注入装置を設けた図4に示すような液体クロマトグラフィ装置を用いてキャリーオーバーに関する評価を行った。液体クロマトグラフィの移動相の溶媒として、100mMの $\text{NaClO}_4$ 及び10mMの $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  (pH 2.6) /  $\text{CH}_3\text{CN}$ の混合溶媒 (体積比55:45) を用いた。また、移動相の溶媒の流速は、0.2ml/分であった。なお、洗浄液にも、移動相の溶媒と同じ組成の混合溶媒を使用した。分離用カラム105は、内径2mm×長さ150mmのカラムを使用し、カラム恒温槽106を用いて分離用カラム105の温度を40℃に保った。液体クロマトグラフィの固定相としてのカラム充填剤には、粒子径5ミクロンのオクタデシル化シリカゲルを用いた。キャリーオーバーを評価するための試料として、キャリーオーバーが起こり易い、

#### 【0054】

## 【化1】



によって表される、塩基性かつ疎水性のクロロヘキシジンを用いた。このクロロヘキシジンを検出するための検出器 107 として、波長 260 nm の紫外線を用いた吸光光度検出器を使用した。

## 【0055】

まず、本発明における超音波洗浄によって、移動相への試料の注入量が変わらないことを確認した。試料として  $2\mu\text{l}$  の 12 ppm のクロロヘキシジンを、試料用ニードル 10 で採取し、次に、試料用ニードル 10 を洗浄部に浸漬させると同時に試料用ニードル 10 の外壁を超音波洗浄し、その後、採取した試料を、移動相に注入した。ここで、試料用ニードル 10 を超音波洗浄したときに検出された試料の注入量は、試料用ニードル 10 を超音波洗浄しないときと比較して変化しなかった。よって、本発明における超音波洗浄では、移動相への試料の注入量が、減少しないことがわかった。

## 【0056】

次に、本発明の試料注入装置におけるキャリーオーバーの評価を行った。キャリーオーバーの評価結果を図 5 に示す。まず、試料として、 $2\mu\text{l}$  の高濃度 1200 ppm のクロロヘキシジンを試料用ニードルに採取して移動相へ注入し、クロロヘキシジンによるピークを検出した。次に、 $2\mu\text{l}$  のクロロヘキシジンを含む移動相と同じ溶媒（以下、ブランク試料と呼ぶ）を注入して、残留するクロロヘキシジン（キャリーオーバー）の有無を観察した。この際に、以下の（1）、（2）及び（3）に示す洗浄を行った。

## 【0057】

(1)  $2\mu\text{l}$  の高濃度  $1200\text{ppm}$  のクロロヘキシジンを試料用ニードルに採取した後、ニードルプレウォッシュを実行してから、採取した試料を移動相へ注入した。その後、試料用ニードルに、ニードルポストウォッシュを適用した後、ブランク試料を採取して、移動相へ注入した。

【0058】

(2)  $2\mu\text{l}$  の高濃度  $1200\text{ppm}$  のクロロヘキシジンを試料用ニードルに採取した後、ニードルプレウォッシュを実行してから、採取した試料を移動相へ注入した。その後、試料用ニードルに、ニードルポストウォッシュ、ポストインジェクションウォッシュ、及びループリンスを適用した後、ブランク試料を採取して、移動相へ注入した。

【0059】

(3)  $2\mu\text{l}$  の高濃度  $1200\text{ppm}$  のクロロヘキシジンを試料用ニードルに採取した後、本発明における超音波洗浄を実行してから、採取した試料を移動相へ注入した。その後、試料用ニードルを洗浄せずに、ブランク試料を採取して、移動相へ注入した。

【0060】

$2\mu\text{l}$  の高濃度  $1200\text{ppm}$  のクロロヘキシジンを移動相へ注入した際に、検出されたクロロヘキシジンのピークを図5 (a) に示す。また、上述の (1) ニードルプレウォッシュ及びニードルポストウォッシュを実行した場合、(2) 上述した四つの自己洗浄機能の全てを実行した場合、及び (3) 本発明における超音波洗浄のみを実行した場合における、ブランク試料注入後のキャリーオーバー（残留するクロロヘキシジン）の測定結果を、それぞれ図5 (b)、(c) 及び (d) に示す。なお、図5 (a) 乃至 (d) において、横軸は、相対的な検出時刻であり、縦軸は、クロロヘキシジンの濃度に比例する吸光度である。

【0061】

ここで、キャリーオーバーがなければ、残留するクロロヘキシジンのピークは、測定されないはずである。図5 (b) に示すように、従来のニードルプレウォッシュ及びニードルポストウォッシュを実行した場合には、残留するクロロヘキシジン、すなわちキャリーオーバーが、検出された。この検出された残留クロロ

ヘキシジンは、試料用ニードルにニードルプレウォッシュを長時間（5秒以上）適用しても、除去されなかった。次に、図5（c）に示すように、従来の四つの自己洗浄機能の全てを実行した場合には、残留するクロロヘキシジンが検出されず、キャリーオーバーを除去することができたが、四つの自己洗浄機能の全てを実行するために、3.9分の洗浄時間を要した。最後に、図5（d）に示すように、本発明における超音波洗浄のみを実行した場合には、残留するクロロヘキシジンが検出されず、キャリーオーバーを除去できると共に、超音波洗浄による洗浄時間は、20秒であった。

#### 【0062】

以上の結果より、本発明の液体クロマトグラフィ装置において、本発明における試料用ニードルの超音波洗浄を行うことによって、四つの自己洗浄機能をすべて実行した場合と同程度までキャリーオーバーを低減させることができ、洗浄時間を短縮することができた。また、試料用ニードルの外壁を超音波洗浄するだけでもよいため、洗浄工程を簡略化することができる。

#### 【0063】

##### 【発明の効果】

本発明によれば、キャリーオーバーを十分に低減することができ、簡便で洗浄時間が短い洗浄手段を有し、洗浄手段による振動の影響が少なく、試料の注入量の誤差が少なく、試料用ニードルの耐久性を低下させない、試料注入装置及び試料注入方法、並びに該試料注入装置を有する液体クロマトグラフィ装置を提供することができる。

#### 【0064】

##### 【図面の簡単な説明】

##### 【図1】

本発明による自動試料注入装置を示す図である。

##### 【図2】

インジェクションバルブの動作を説明する図である。

##### 【図3】

本発明の試料注入方法を説明する図である。



**【図 4】**

液体クロマトグラフィ装置を説明する図である。

**【図 5】**

液体クロマトグラフィ装置に対して行ったキャリーオーバーの評価結果を示す図であり、(a) は、試料のピーク、(b) は、ニードルプレウォッシュ及びニードルポストウォッシュを実行した場合の検出結果、(c) 四つの自己洗浄機能の全てを実行した場合の検出結果、及び (d) は、本発明における超音波洗浄のみを実行した場合の検出結果を示す図である。

**【図 6】**

自動試料注入装置の主な動作を説明する図である。

**【図 7】**

ニードルプレウォッシュを説明する図である。

**【図 8】**

ニードルポストウォッシュを説明する図である。

**【図 9】**

ポストインジェクションウォッシュを説明する図である。

**【図 10】**

ループプリンスにおけるループプリンスバルブの動作を説明する図であり、(a) ループプリンスの洗浄機能を動作させない場合、及び (b) は、ループプリンスの洗浄機能を動作させる場合、を示す図である。

**【図 11】**

ループプリンスにおけるサンプルループ及びインジェクションバルブの洗浄を説明する図である。

**【符号の説明】**

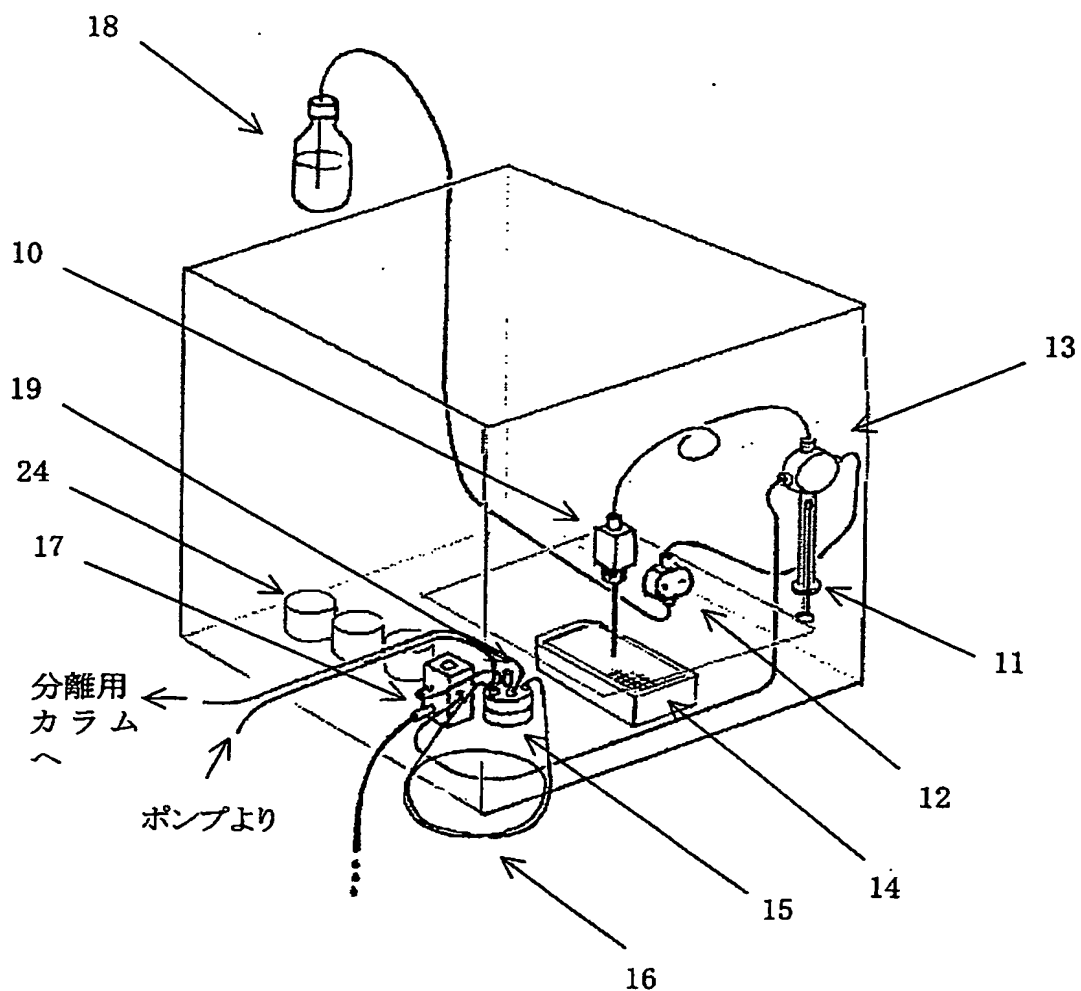
- 10 試料用ニードル
- 11 シリンジ
- 12 洗浄液用ポンプ
- 13 バルブ
- 14 試料用容器

- 1 5     インジェクションバルブ
- 1 6     サンプルループ
- 1 7     洗浄部
- 1 8     洗浄液用容器
- 1 9     インジェクションポート
- 2 1     超音波振動子
- 2 2     振動緩衝用バネ
- 2 3     廃液ポート
- 2 4     洗浄液ポート
- 1 0 1     移動相貯槽
- 1 0 2     移動相脱気装置
- 1 0 3     ポンプ
- 1 0 4     試料注入装置
- 1 0 5     分離用カラム
- 1 0 6     カラム恒温槽
- 1 0 7     検出器
- 1 0 8     ループリンスバルブ

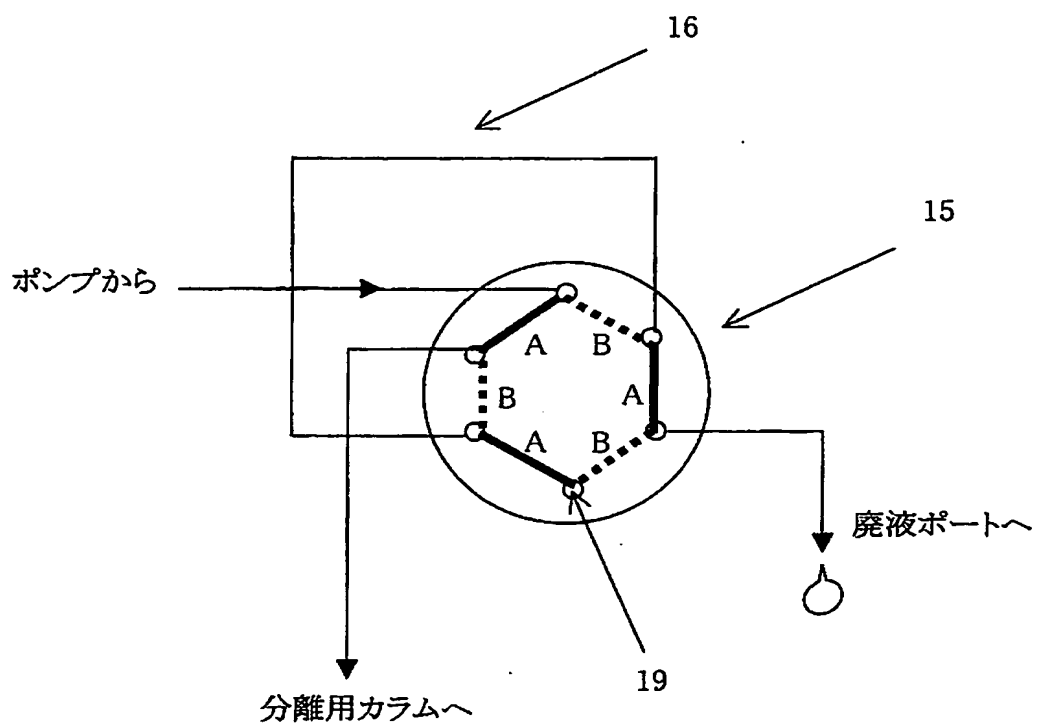
【書類名】

図面

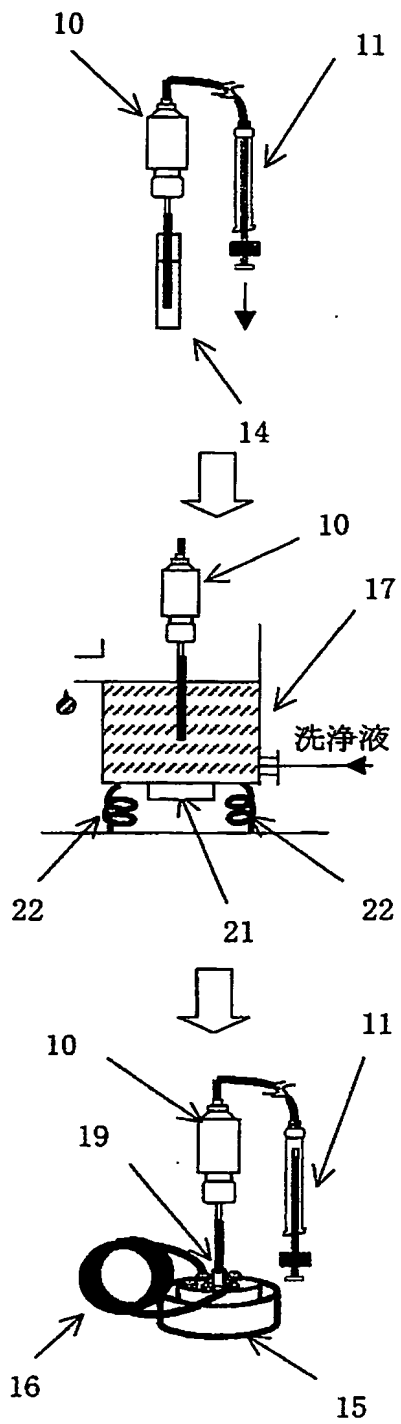
【図 1】



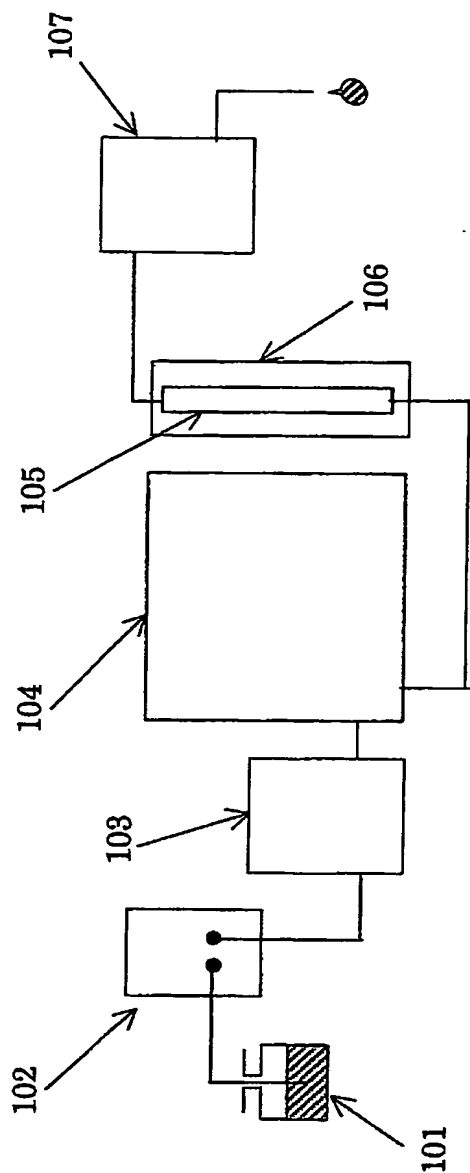
【図 2】



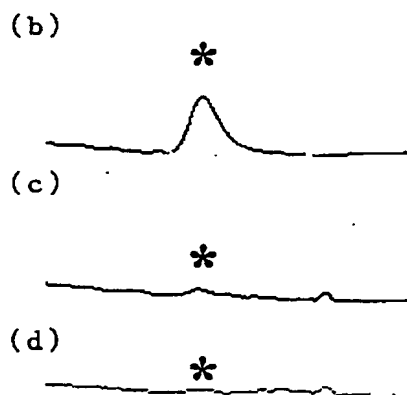
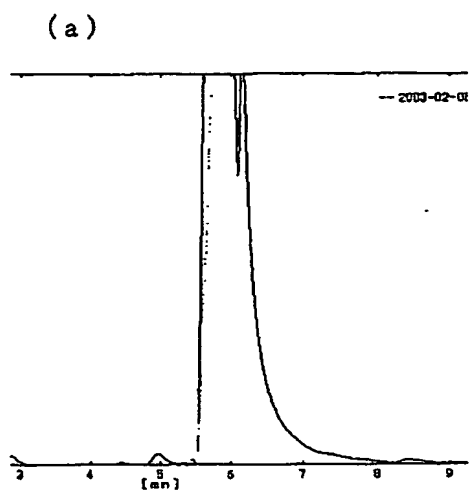
【図 3】



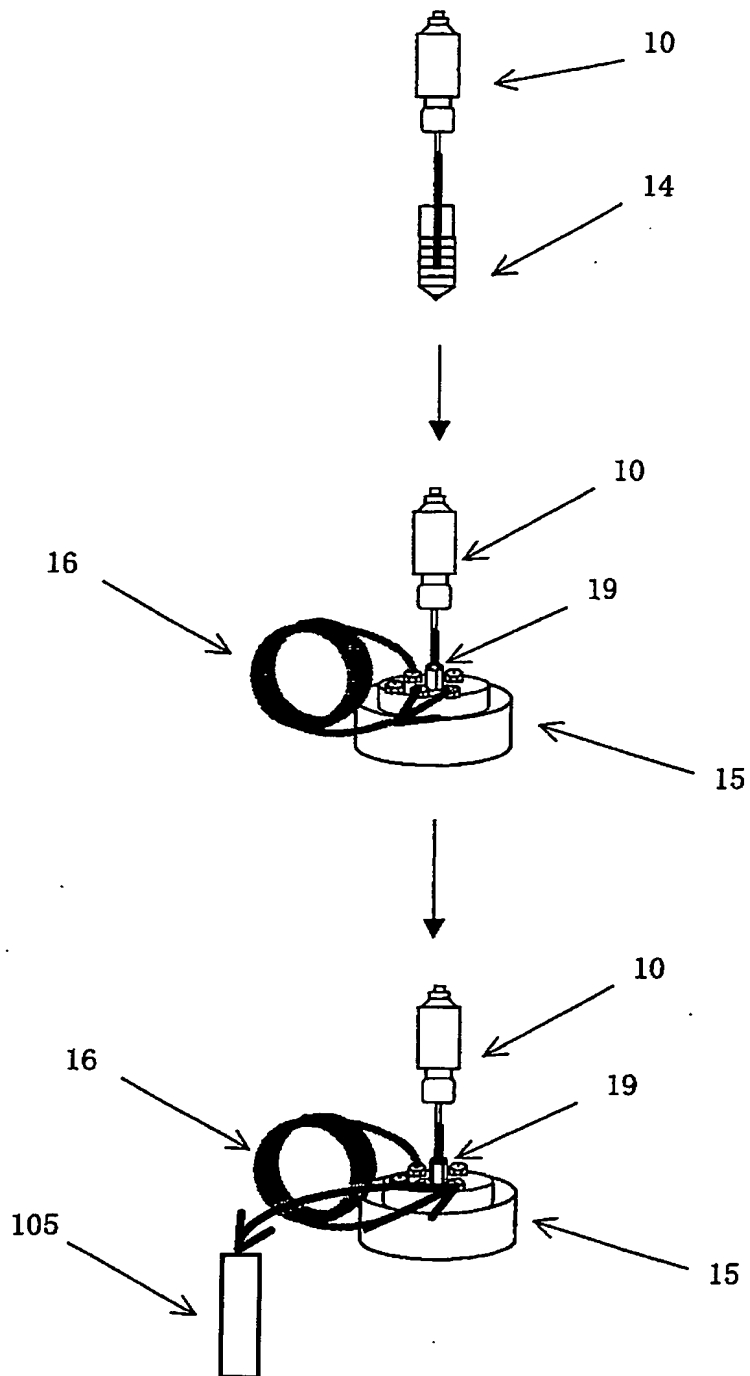
【図 4】



【図 5】

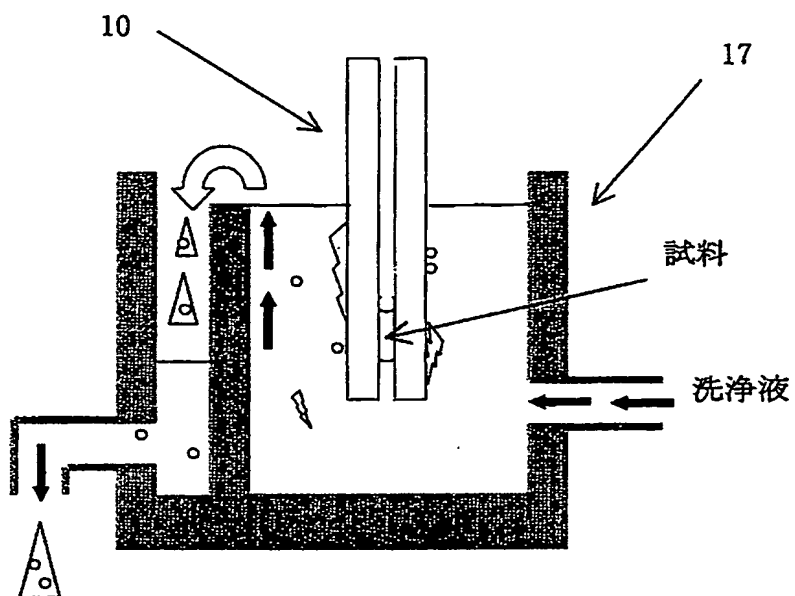


【図 6】

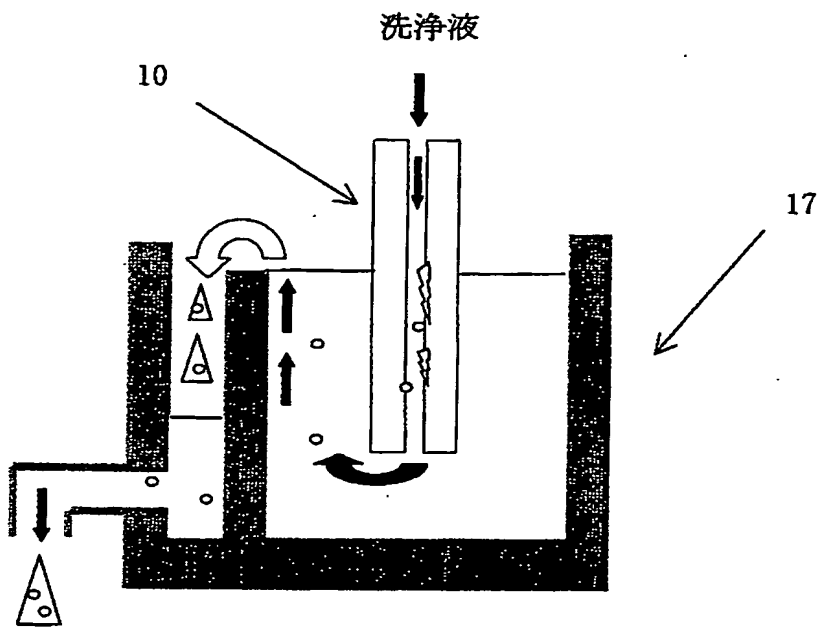




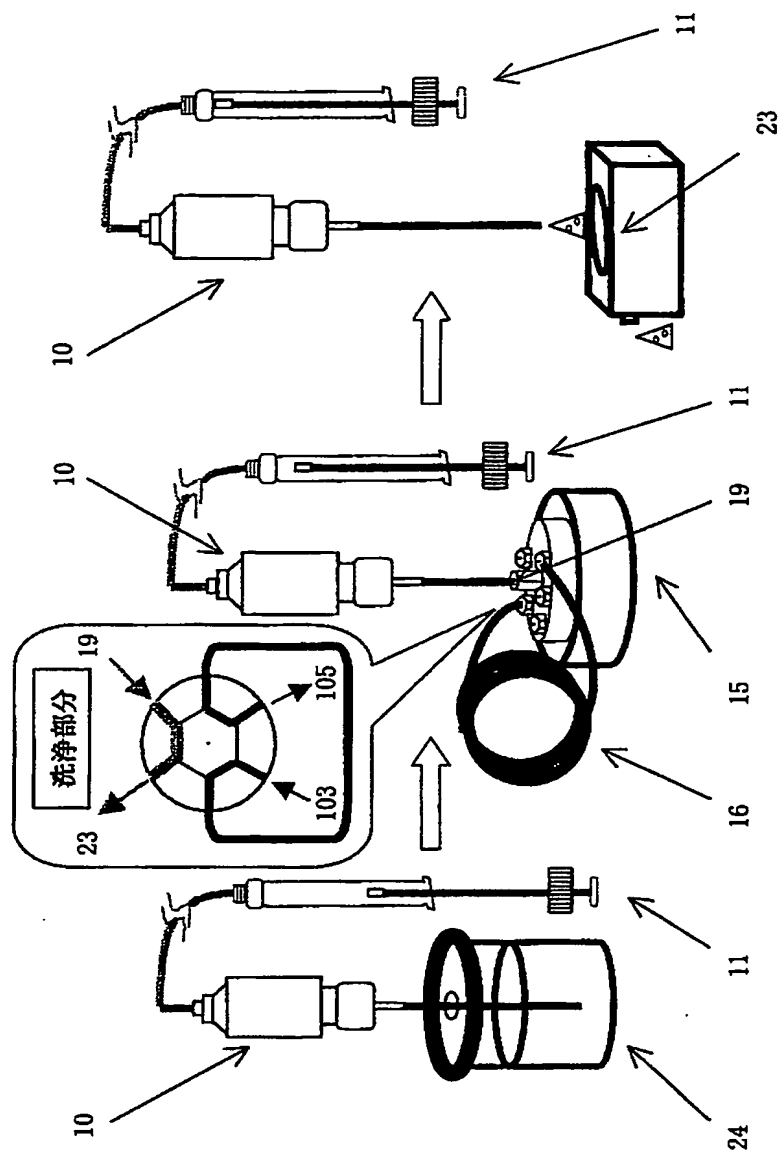
【図 7】



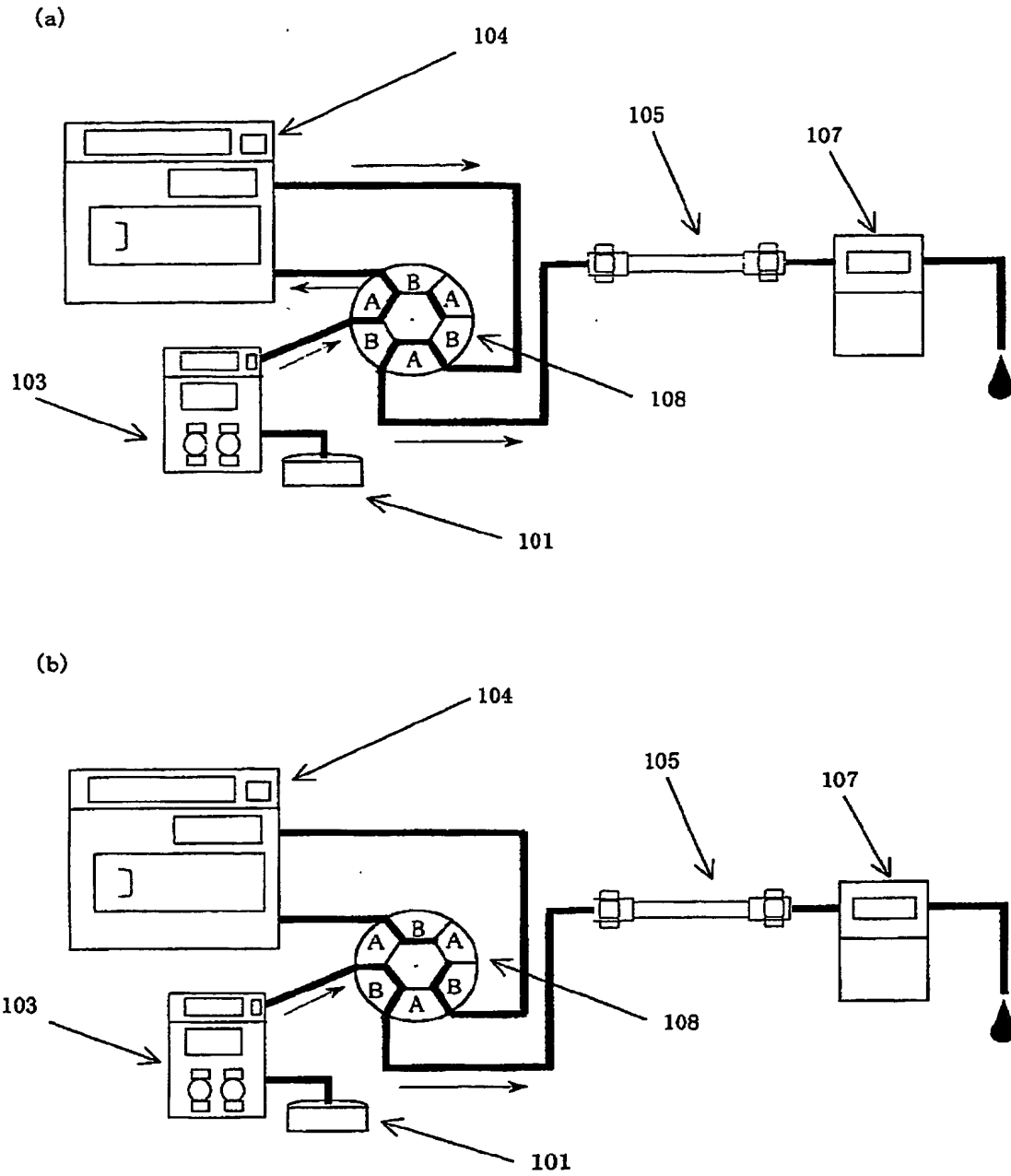
【図 8】



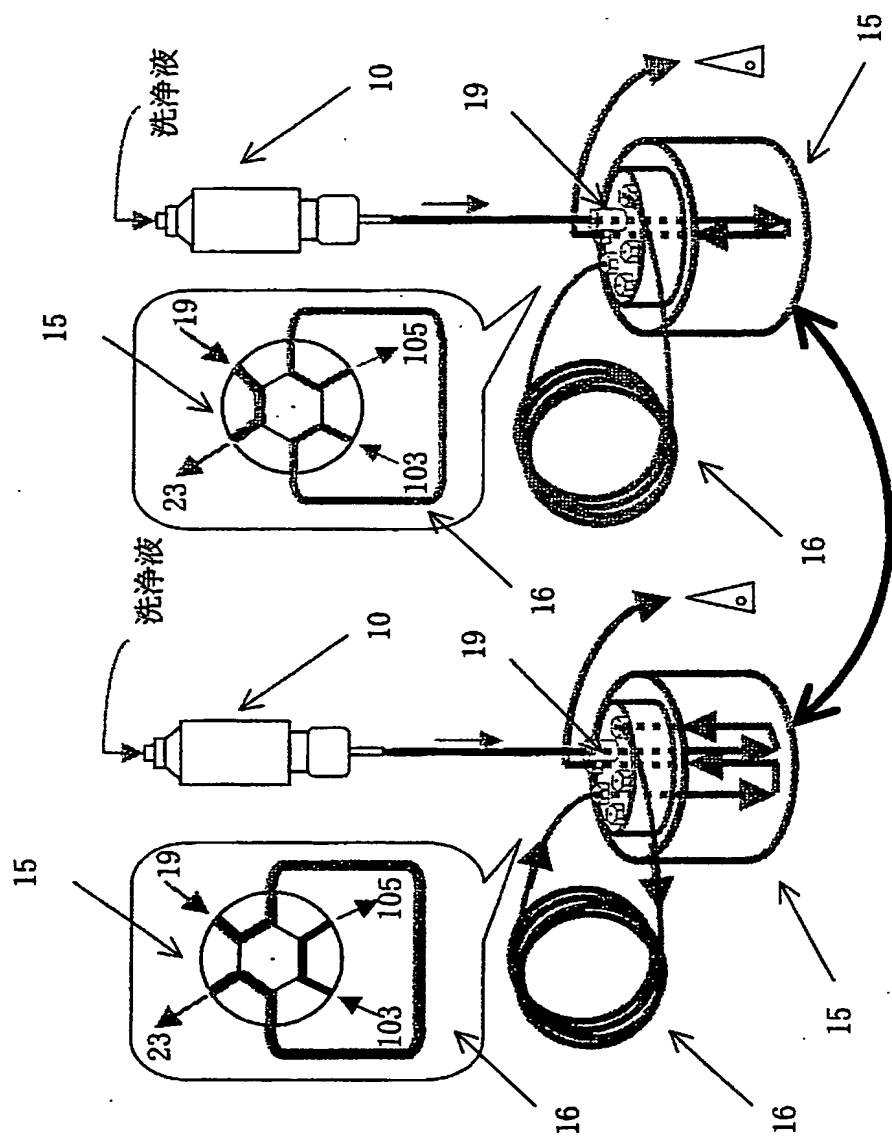
【図 9】



【図 10】



【図 11】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 キャリーオーバーを十分に低減することができ、簡便で洗浄時間が短い洗浄手段を有し、洗浄手段による振動の影響が少なく、試料の注入量の誤差が少なく、試料用ニードルの耐久性を低下させない、試料注入装置及び試料注入方法、並びに該試料注入装置を有する液体クロマトグラフィ装置を提供する。

【解決手段】 試料が供給される試料用容器 14、試料を吸引及び吐出する試料用ニードル 10、少なくとも試料用ニードル 10 を洗浄する洗浄液が供給される洗浄部 17、試料用ニードル 10 から吐出される試料を、移動する液体に注入する試料注入部 15、並びに試料用容器 14、洗浄部 17、及び試料注入部 15 の間で試料用ニードル 10 を移動させるニードル移動手段、を有し、洗浄部 17 は、洗浄液に超音波を発生させる超音波振動子 21 を有する試料注入装置とする。

【選択図】 図 3

特願 2 0 0 3 - 1 3 7 8 8 1

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [ 0 0 0 0 0 1 9 5 9 ]

1. 変更年月日	1 9 9 0 年 8 月 2 7 日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都中央区銀座 7 丁目 5 番 5 号
氏 名	株式会社資生堂